KISEP Original Articles
臨床耳鼻：第10卷 第1號 1999
J Clinical Otolaryngol 1999;10:53-60

비용에서 IL-4, IL-6, GM-CSF와 IFN-γ mRNA의 발현

가톨릭대학교 의과대학 이비인후과학교실
박 용 진·윤 희 로

Expression of IL-4, IL-6, GM-CSF and IFN-γ mRNAs in Nasal Polyps

Yong Jin Park, MD and He Ro Yoon, MD
Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

－ ABSTRACT －

Background and Objectives：Nasal polyps are chronic inflammatory polyps originating from the middle meatus and maxillary sinus, and are usually resistant to medical treatment and often recur after surgical resections. Although the etiology and the pathogenesis are still unknown, recent studies have suggested an immunologic role for the development of nasal polyps. This study aimed to investigate the cellular infiltration and cytokine mRNA expression in nasal polyps, and compare the histopathology and cytokine profile of patients with clinically different nasal polyps. **Materials and Methods**：Authors examined the infiltration of lymphocytes, eosinophils, and plasma cells as well as the expression of IL-4, IL-6, IFN-γ, and GM-CSF mRNAs using the semiquantitative RT-PCR method in antrochoanal (n=6), allergic nasal (n=6), and nonallergic nasal polyps (n=16), and the middle turbinate of normal controls (n=4). **Results**：Plasma cell infiltration was more intense in nasal polyps irrespective of the type ($p<0.05$), and eosinophil infiltration in allergic nasal polyps was more intense than in the normal tissue ($p<0.05$). Antrochoanal polyps showed higher levels of IL-4, IL-6, and GM-CSF mRNA expression, and increased IL-4/IFN-γ ratio, suggesting that the humoral immune reaction was predominant. Nonallergic nasal polyps showed higher levels of IFN-γ, and GM-CSF mRNA expression, and low IL-4/IFN-γ ratio, suggesting that the cellular immune reaction was predominant. Allergic nasal polyps showed higher levels of IL-4, IFN-γ, and GM-CSF mRNA expression, suggesting that both the cellular and humoral immune reactions may coexist. **Conclusion**：Different immune mechanisms may be responsible for nasal polyps of different clinical types. **(J Clinical Otolaryngol 1999;10:53-60)**

KEY WORDS：Nasal polyp · Cytokine · Reverse transcription polymerase chain reaction.

서 론

비용은 비강의 중비도에 호발하는 양성 종양으로 다발성, 양측성인 경우가 많은 만성 염증성 질환이며,[1] 임상적으로는 적절한 치료에도 불구하고 재발하는 경향이 있다.[2] 조직학적으로 비용은 호흡상피로 덮혀 있으며, 점막 상피하 고유층의 부종과 다양한 염증세포, 특히 임파구, 형질세포 및 호산구의 조직내 침윤을 특징으로 한다.[3]

비용의 발생원인에 대해서 다양한 설들이 제시되나 이들 중 어떠한 것도 비용과 연관된 사실들을 모두 설명

논문접수일 : 1998년 9월 2일
심사완료일 : 1998년 12월 24일
교신저자 : 박용진, 442 - 060 경기도 수원시 팔달구 지동 93번지 가톨릭대학교 의과대학 성빈센트병원 이비인후과학교실
전화 : (0331) 240 - 2515 · 전송 : (0331) 257 - 3752

하지 못한다. 그러나 최근 비용의 주된 특징인 조직내 부종은 염증성 반응과 같은 면역학적 기전으로 그 원인이 설명되고 있다.[4)5)]

한편 비용은 임상적으로 발생위치에 따라 상악동 개구를 통해 후비강에 발생하는 상악동 후비용과 중비도에서 발생하는 비용으로 분류되고, 후자는 다시 알레르기의 동반 여부에 따라 알레르기성과 비알레르기성 비용으로 구분되는데, 이들은 임상적 치료에 대한 반응이 서로 달라 그 발생기전에 차이가 있음을 짐작케하나 아직까지 명확한 기전은 밝혀져있지 않다.[6)7)]

이에 저자는 비용의 임상적 종류에 따라 서로 다른 발생기전을 갖는다는 가정하에, 각 비용의 발생기전을 면역학적인 측면에서 규명하고자 각 비용조직에서의 세포침윤과 cytokine mRNA 발현양상을 비교 관찰하였다.

대상 및 방법

연구대상

실험군은 가톨릭대학교 의과대학 성빈센트병원 이비인후과에서 만성부비동염을 동반한 비용으로 진단된 환자 28명으로 이들은 각각 상악동 후비용군 6명, 알레르기성 비용군 6명, 비알레르기성 비용군 16명이었다. 알레르기성 비용군 6명은 알레르기성 비염의 병력과 특징적인 증상을 보이며, 집먼지 진드기(Dermatophagoides pteronyssinus and/or Dermatophagoides farinae)에 대한 피부단자검사와 radioallergosorvent test (RAST)양성으로 진단된 통년성 알레르기성 비염환자였으며 다른 22명의 환자들은 알레르기의 병력이 없었고 피부반응 검사와 RAST검사에서 음성반응을 나타내었다. 환자가 정기적인 국소 혹은 경구용 스테로이드 제제나 경구용 항생제를 사용하고 있거나 상기도 감염 회복후 3주 이내인 경우는 연구대상에서 제외하였다. 실험조직은 비용적출시 채취한 비용조직을 사용하였다. 대조군으로는 뇌하수체종양 환자의 경비접형동 접근술시 중비갑개 부분절제술을 시행한 사람중 부비동염의 소견이 없으며 정상점막 소견을 보이고, 재채기, 수양성 비루 및 소양증 등의 알레르기 증상이 없고 피부 반응 검사상 음성이며, 혈청 총 IgE 농도가 450 IU/ml 이하인 4명으로부터 채취한 중비갑개 조직을 사용하였다. 각각의 중비갑개 조직과 비용조직에서 임파구, 호산구 및 형질세포의 침윤을 현미경하에서 관찰하였으며, 세포성 면역반응에 주된 역할을 하는 interferon-gamma(IFN-γ), 체액성 면역반응 중 특히 알레르기 면역반응을 조절한다고 알려진 interleukin(IL)-4와 -6, 그리고 호산구의 생존과 증식에 관여하는 granulocyte/macrophage colony stimulating factor(GM-CSF)들의 mRNA 발현정도를 역전사 중합효소 연쇄반응을 이용하여 조사하였다.

조직 염색 및 광학 현미경 관찰

적출한 비용을 두 부분으로 나누어 절반은 상피하층에 침윤된 임파구, 호산구와 형질세포의 침윤정도를 측정하기 위하여 10% 포르말린 용액에 고정하여 paraffin 포매절편을 만들어 hematoxylin-eosin 염색을 실시하였고, 나머지는 total RNA 분리용으로 사용하였다. 상피하 고유층내 침윤된 임파구, 호산구 및 형질세포는 서로 다른 2명의 관찰자가 광학현미경으로 400배에서 열 개의 시야를 관찰하여 한 시야당 평균세포수를 산정하였다. 임파구, 호산구 및 형질세포의 침윤정도는 다음과 같은 기준에 따라 -에서 3+까지 분류하였다 : (-)=세포가 없음/400배 시야, (+)=세포가 1 5개/400배 시야, (2+)=세포가 6 30개/400배 시야, (3+)=세포가 31개 이상/400배 시야

RNA 분리 및 역전사 중합효소 연쇄반응(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)

RNA 분리

비용조직과 정상 중비갑개의 생검조직은 채취직후 RNA 분리용액인 RNAzol™ B reagent(Tel-Test, Inc., Texas, U.S.A.)(2 ml/100 mg tissue)와 함께 1.5 ml microcentrifuge tube에 넣어 RNA를 분리할 때 까지 -70℃로 보관하였다. 그후 조직분쇄기(Biospec products, Inc., Bartlesville State, U.S.A.)를 이용하여 이들 조직을 균질화 한후 균질액 2 ml에 0.2 ml의 chl-

oroform을 첨가하고 15초 동안 흔들어 혼합하였다. 혼합액을 얼음에서 5분간 냉각시키고 다시 15분동안 12,000 g에서 원심분리시킨 후 상층 수용액을 새로운 microcentrifuge tube에 옮겨 동량의 isopropanol을 첨가하고 4℃에서 15분 동안 저장하였다. 그 후 4℃ 12,000 g에서 15분 동안 원심분리로 형성된 RNA pellet을 75% ethanol로 한 번 세척한 후 10분동안 건조시켰다. 건조된 RNA pellet은 diethylpyrocarbonate(DEPC)로 처리한 증류수(DEPC water)로 용해한뒤 GeneQuant II (Pharmacia Biotech., Cambridge, England)를 이용하여 RNA를 정량하였고 사용전까지 -70℃에서 보관하였다.

역전사(Reverse transcription)

추출된 total RNA로 부터의 cDNA합성은 Superscript™ preamplification system kit(Life Technologies, Gaithersburg, MD, U.S.A.)을 이용하였다. Microcentrifuge tube에 2 μg의 RNA와 1 μl의 random hexamer를 넣고 DEPC water로 총 12 μl가 되게 한 다음 70℃에서 10분간 가열시키고 얼음에서 1분동안 incubation시켰다. 각 시료당 10×PCR buffer 2 μl, 25 mM $MgCl_2$ 2 μl, 10 mM dNTP 1 μl, 0.1 M DTT 2 μl를 넣은 후 25℃에서 10분간 incubation시키고, 여기에 Superscript II reverse transcriptase(Life Technologies)(200 U/μl) 1 μl를 넣고 25℃에서 10분간, 42℃ water bath에서 50분간,그리고 70℃에서 15분간 incubation시켰다. 그 후 1분간 얼음에 넣어두었다가 RNase H 1 μl와 37℃에서 20분간 incubation시켰다.

중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)

β-actin, IL-4, IL-6, IFN-γ 그리고 GM-CSF에 대한 primer는 Seoul Clinical Laboratory(Seoul, Korea)에서 제작하였으며 이들의 염기 서열 및 증폭된 산물의 크기는 Table 1과 같다. PCR 반응을 위해서는 각각 upstream primer(100 pM)와 downstream primer(100 pM) 1 μl, 각 시료의 cDNA 2 μl, 10×PCR buffer 5 μl, 25 mM $MgCl_2$ 3 μl, 10 mM dNTP 1 μl, 멸균증류수 36.5 μl 그리고 *Taq* DNA polymerase(Promega, Madison, WI, U.S.A.) 0.5 μl를 혼합한 뒤 thermocycler(Perkin Elmer Model, Branchburg, NJ, U.S.A.)를 사용하여 혼합물을 증폭하였다. Denaturation을 위하여 94℃ 1분간, Annealing을 위하여 IL-6에서는 55℃ 2분, IL-4/IFN-γ에서는 57℃ 2분, GM-CSF/β-actin에서는 66℃ 2분간, 그리고 Extension을 위하여 72℃ 3분간 과정을 30회 반복 시행하였다. 중합효소 연쇄반응의 타당성을 검증하기 위하여 각 cytokine의 cDNA를 계열 희석 시키면서 중합효소 연쇄반응을 시행하였을 때 희석 배수의 증감에 따라 중합효소 연쇄반응 산물의 증감이 관찰되어 본 실험이 plateau 단계에 있지 않음을 알 수 있었다. 양성대조군은 각 cytokine의 cDNA(American Type Culture Collection, Maryland, U.S.A)를, internal standard로는 β-actin cDNA(American Type Culture Collection, Maryland, U.S.A)를 사용하였고, 음성대조군으로 reverse transcriptase만을 빼고 실시한 중합효소 연쇄반응에서 중합효소 연쇄반응 산물이 관찰되지 않아 오염이 없음을 확인하였다.

Table 1. Primer sequences used for PCR

Cytokines	Expected size (bp)	Primer sequence
IL-4	363	5'-GAACTTTGTCCACGGACAC-3' 5'-GCCTTTCCAAGAAGTTTTCC-3'
IL-6	372	5'-GAAGCTTCCAAACATGGCTGA-3' 5'-AGGATCCCATGCTACATTTGC-3'
IFN-γ	325	5'-TTCTCTTGGCTGTTACTG-3' 5'-ACCGAATAATTAGTCAGC-3
GM-CSF	319	5'-CAAGCTTAAGGGCCCCTTGACCATG-3' 5'-TGGATCCGGGTCAGTGTGGCCCAGGG-3
β-actin	275	5'-GAAGCTTCCAAACATGGCTGA-3' 5'-AGGATCCCATGCTACATTTGC-3'

전기영동에 의한 RT-PCR 산물의 반정량적 분석(semiquantitative analysis)

각각의 증폭생성물 10 μl를 부하완충액(loading buffer ; 0.25% bromophenol blue ; 0.25% xylene cyanol FF ; 30% glycerol in water) 2 μl와 혼합한 후 0.5 μg/ml의 ethidium bromide가 포함된 1.5% 한천겔(agarose gel)에서 100 V로 40분 동안 전기영동하였다. 전기영동한 한천 겔을 Eagle Eye™ II still video system(Stratagene, La Jolla, CA, U.S.A.)으로 관찰하고, Eagle Sight™ 3.0 Image Capture and Analysis Software(Stratagene)를 사용하여 각 cytokine band intensity를 측정하였으며 정확한 비교를 위해 시료로부터 얻어진 band intensity를 해당하는 시료의 β-actin density와의 비율로 보정하였다.

통계분석

각 cytokine의 mRNA 발현정도는 SPSS(Windows version 7.5) software를 사용하였으며, 각 군간의 비교는 Kruskal-Wallis 검사로, 그리고 두 군간의 비교는 Wilkoxon rank sum test로 비교하였다. 각 군에서의 조직내 임파구, 호산구 및 형질세포의 침윤정도는 Chi-square test를 이용하였다. 모든 실험 결과는 평균±표준편차로 표시하였고 유의수준은 $p<0.05$로 하였다.

결 과

임파구, 호산구 및 형질세포의 침윤 정도

각 비용조직을 paraffin 포매한 후 hematoxylineosin로 염색하여 400배의 현미경하에서 세포의 침윤을 관찰하였다(Table 2).

Table 2. Infiltration of lymphocytes, eosinophil, and plasma cells in subepithelial layer of nasal mucosa of normal control (NC), antrochoanal polyp (ACP), allergic nasal polyp (AP), and nonallergic nasal polyp (NAP)

Cell type	Grade	ACP (n=6)	AP (n=6)	NAP (n=16)	NC (n=4)
Lymphocyte	+	1	0	0	0
	++	4	3	11	4
	+++	1	3	5	0
Eosinophil	+	4	0	10	4
	++	2	2*	5	0
	+++	0	4*	1	0
Plasma cell	+	1	1	4	4
	++	5*	5*	12*	0
	+++	0	0	0	0

(+) = 1-5 cells per field(×400)
(++) = 6-30 cells per field(×400)
(+++) = above 30 cells per field(×400)
*$p<0.05$, compared with NC.
Tissues were fixed with paraffin and stained with HE. Cells infiltrated in each section were counted at the field of 400 magnifications, and graded as described in Methods.

임파구

정상대조군과 각 비용군간에 유의한 차이가 없었다.

형질세포

정상대조군에 비해 비용군에서 형질세포의 침윤이 증가하는 양상을 보였다($p<0.05$). 즉 비용군의 경우 28례 중 22례에서 ++ 이상의 침윤을 보였으나, 정상대조군의 경우에는 4례 모두에서 +의 낮은 침윤을 보였다. 그러나 각 비용군간의 침윤정도는 차이가 없었다.

호산구

알레르기성 비용군의 경우 정상대조군, 상악동 비용군과 비알레르기성 비용군에 비해 호산구의 침윤이 증가하였으나($p<0.05$) 나머지 군간에는 유의한 차이가 없었다.

Cytokine mRNA의 분석

IL-4와 IFN-γ

정상 중비갑개조직과 각 비용군의 비용조직으로부터 RNA를 분리한 뒤, RT-PCR 방법을 이용하여 IL-4와 IFN-γ의 발현을 조사하였다. 대조군인 정상 중비갑개조직의 경우 두 가지 cytokine 모두가 전혀 발현되지 않거나 매우 미약하였으며, 비용조직에서는 각 실험군 간에 정도의 차이는 있으나 IL-4의 경우 26례에서, IFN-γ의 경우 28례 모두에서 발현되는 양상을 보였다(Fig. 1). 한편, 각 군간의 발현 정도 비교를 위하여 두 가지 cytokine의 발현양을 β-actin과의 비율로 표시하였다(Fig. 2). 그 결과, 대조군에서는 IL-4와 IFN-

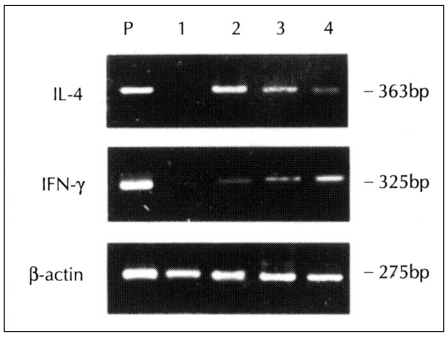

Fig. 1. Expression of IL-4 and IFN-g in nasal polyps. Total RNAs were purified from normal middle turbinates (NC, lane 1, n=4), antrochoanal polyps (ACP, lane 2, n=6), allergic nasal polyps (AP, lane 3, n=6), and nonallergic nasal polyps (NAP, lane 4, n=16), and RT-PCR was done as described in Materials and Methods. Ten microliters of each sample were separated on 1.5% agarose gel, and stained with ethidium bromide. Data shown in this figure are the representatives from each experimental group. P, positive control for PCR.

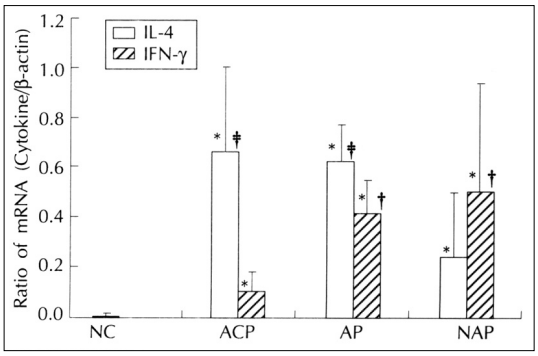

Fig. 2. Semiquantitative analysis of IL-4 and IFN-g mRNA in normal control (NC, n=4), antrochoanal polyp (ACP, n=6), Allergic nasal polyp (AP, n=6), and nonallergic nasal polyp (NAP, n=16). Ten microliters of RT-PCR products for IL-4, IFN-γ, and β-actin were separated, and the density of each band was measured using densitometry as described in Methods. The relative amount of IL-4 and IFN-γ mRNA was expressed as the ratio of the density of IL-4 and IFN-γ to that of β-actin. Data are mean±SD (bars). *p<0.05, compared with NC, †p<0.05, compared with ACP, ‡p<0.05, compared with NAP.

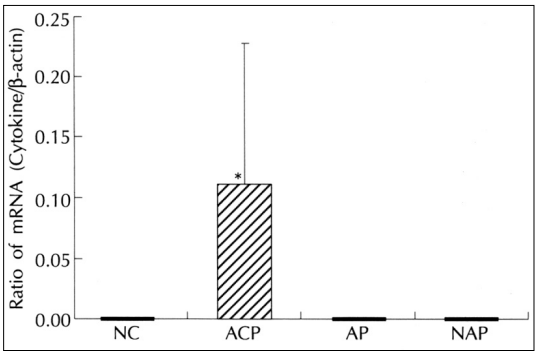

Fig. 3. Semiquantitative analysis of IL-6 mRNA in normal control (NC, n=4), antrochoanal polyp (ACP, n=6), allergic nasal polyp (AP, n=6), and nonallergic nasal polyp (NAP, n=16). Ten microliters of RT-PCR products for IL-6 and b-actin were separated, and the density of each band was measured using densitometry as described in Methods. The relative amount of IL-6 mRNA was expressed as the ratio of the density of cytokine to that of β-actin. Data are mean±SD (bars). *p<0.05, compared with NC, AP and NAP.

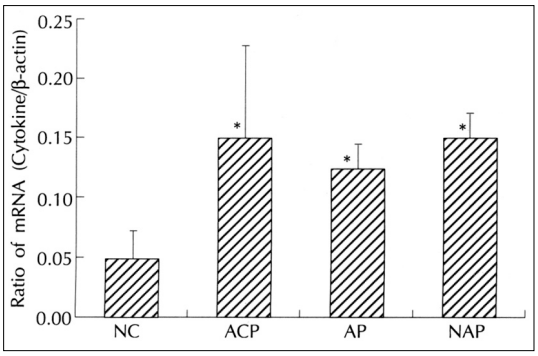

Fig. 4. Semiquantitative analysis of GM-CSF mRNA in normal control (NC, n=4), antrochonal polyp (ACP, n=6), allergic nasal polyp (AP, n=6), and nonallergic nasal polyp (NAP, n=16). Ten microliters of RT-PCR products for GM-CSF and b-actin were separated, and the density of each band was measured using densitometry as described in Methods. The relative amount of GM-CSF mRNA was expressed as the ratio of the density of cytokine to that of β-actin. Data are mean±SD (bars). *p<0.05, compared with NC.

γ가 전혀 발현되어 있지 않음을 알 수 있었고, 이에 비해 비용군에서는 두 가지 cytokine 모두가 유의하게 증가되어 있었다. 비용군간의 결과를 비교해보면, 상악동후비용군과 알레르기성 비용군에서는 IL - 4의 발현증가가 IFN - γ보다 현저했으며, 비알레르기성 비용군에서는 IFN - γ의 증가가 IL - 4보다 큰 것으로 나타났다. 또한 동일한 중비도 비용일지라도 알레르기성 비용의 경우가 비알레르기성 비용에 비해 IL - 4의 발현이 유의하게 증가하였으며, 비용의 위치에 따라서도 상악동에서 발생한 비용군이 중비도에서 발생한 비용군에 비해

IFN - γ의 발현이 현저하게 적었다.

IL - 6

상악동 후비용군에서만 6례중 4례에서 발현되었으며, 정상 중비갑개군과 알레르기성 및 비알레르기성 비용군 등 나머지 군에서는 전혀 발현되지 않았다(Fig. 3).

GM - CSF

GM - CSF는 네가지 실험군 모두에서 발현되었으며, β - actin과의 비율에 따른 발현정도는 각 비용군이 정상 중비갑개군에 비해 유의한 발현증가를 보였으나 각 비용군간의 차이는 관찰되지 않았다(Fig. 4).

고 찰

비용의 발생원인에 대하여는 현재까지 감염설,[8] 알레르기 염증설,[9] 점액선 변화에 따른 상피파열설,[10] 비강 협착부에서 발생한 음압에 의해 사골동 점막이 빨려들어가 비용이 발생한다는 Bernouilli설,[11] 상피 세포내 이온이동 차이에 의한다는 설[4]등의 여러 가설들이 제시되고 있으나 아직 확실한 이론은 정립되어 있지 않다. 최근에는 면역학적 기전이 비용의 생성에 관여한다는 보고들이 발표되어 주목을 받고 있다. 즉 중비도의 비점막이 공기흐름의 변화에 쉽게 영향을 받도록 위치해 있기 때문에 감염, 항원 - 항체반응 및 신경성 혈관변화등과 같은 다양한 자극들이 점막내 염증변화를 쉽게 일으킬 수 있으며, 이에따라 비점막을 구성하는 상피세포와 섬유모세포로부터 다양한 성장인자와 cytokine들이 분비되어 임파구, 호산구 및 비만세포들의 침윤과 생존기간이 증가되고 결국에는 이들 염증세포들로부터 다양한 염증매개체가 유리됨으로서 부종이 형성된다는 것이다.[4][5] 일례로, 천식이나 알레르기성 비염과 같은 상하기도의 알레르기 염증성 질환에서 임파구, 비만세포 및 호산구등이 증가되고 또 이들과 상피세포나 섬유모세포에서 분비되는 여러 가지 cytokine들이 그 원인인자로 알려져 있는데, 비용에서도 비슷한 세포들의 침윤증가가 관찰되므로 비점막내 미세환경의 면역학적 변화가 비용의 발생기전중 하나로 생각되고 있다.

광학 현미경으로 각종 비용조직에서 세포 침윤을 관찰한 결과, 상피내 염증세포는 매우 드물게 관찰되는 반면, 침윤된 염증세포들의 대부분이 고유층, 특히 상피 직하부에 가장 밀집되는 양상을 보였다. 이러한 본 연구결과를 볼때 정상 중비갑개조직에 비해 모든 비용조직에서 형질세포의 침윤이 증가하는 것으로 관찰되었다. 이러한 결과는 비용의 조직내에 각종 면역글로부린 농도가 증가되어 있다는 Chandra등[12]의 보고와도 일치하는 것으로서, 비용의 성장에 체액성 면역반응이 국소적으로 관여함을 시사해준다. 한편 본 연구에서 호산구가 알레르기성 비용군에서만 유의하게 증가한 것으로 나타났는데 이는 알레르기성 비용군과 비알레르기성 비용군에 침윤된 호산구수에는 유의한 차이가 없었다는 Lee등[13]의 결과와는 대조를 이룬다.

Cytokine은 조직내 침윤된 임파구와 호산구 등의 염증세포와 조직내의 비만세포, 섬유모세포, 상피세포 및 대식세포등에서 분비된다. 따라서 염증조직내에서의 cytokine 분석을 통하여 해당 병변에서의 면역반응 양상을 짐작할 수 있다. Mossmann등[14]은 cytokine을 생성하는 T 세포의 종류에 따라 마우스의 cytokine을 Th - 1과 Th - 2 cytokine으로 크게 구분하였다. 즉 Th - 1 cytokine은 대식세포의 활성화에 관여하는 inflammatory T 세포에서 분비되는 IL - 2, IFN - γ 및 tumor necrosis factor - β 등이며, Th - 2 cytokine에는 B 세포를 활성화시켜 항체생성을 촉진하는 helper T 세포에서 생성되는 IL - 4, - 5, - 6, and - 10 등이 포함된다. 한편 사람에서는 Th 세포의 구분이 명확하지 않으나 알레르기 천식환자와 아토피성 진드기 과민환자에서 cytokine의 발현을 조사했던 최근의 보고[15][16]에서는 마우스의 경우처럼 cytokine을 Th - 1과 Th - 2로 나누어 면역반응의 종류와의 관계를 설명하고자 하였다. 본 연구에서도 각종 비용에서의 cytokine mRNA의 발현을 semiquantitative RT - PCR 방법으로 정량하여 그 발현정도를 비교함으로서, 비용을 임상적 종류에 따른 발생기전에 어떠한 면역기전이 관여하는 지를 역으로 유추하고자 하였다(Table 3).

우선 주목할 만한 결과는 모든 비용에서 IL - 4가 대조군에 비하여 현저한 증가를 보여주었다는 것이다. 이러한 결과는 Th - 2 cytokine의 하나로서, IL - 4가 중요한 B 세포 성장인자임을 고려해 볼 때, 체액성 면역

Table 3. Summary of the semi quantitative analysis of IL-4, IFN-g, IL-6, and GM-CSF mRNA in normal control (NC), antrochoanal polyp (ACP), allergic nasal polyp (AP), and nonallergic nasal polyp (NAP)

	NC (n=4)	ACP (n=6)	Middle meatal polyp	
			AP	NAP
IL-4	0.007	0.66±0.30	0.62±0.16	0.24±0.27
IFN-g	0	0.10±0.05	0.42±0.15	0.51±0.38
IL-6	0	0.11±0.12	0	0
GM-CSF	0.05±0.02	0.15±0.08	0.12±0.02	0.15±0.02

The relative amount of each cytokine mRNA was expressd as the ratio of the density of each cytokine to that of β-actin. Data are mean±SD.

이 비용의 종류에 무관하게 비용의 형성에 관여한다는 것을 보여주는 것으로서 이는 본 논문의 세포침윤 실험에서 관찰되었던 형질세포의 침윤결과와도 일치하는 것이다. 한편 중비도 비용의 경우에는 알레르기성 비용에서의 IL - 4 생성이 비알레르기성에 비하여 크게 증가하였는데, 이는 호산구의 침윤이 알레르기성 비용에서만 증가했던 결과로 미루어 볼 때, 상대적인 IL - 4의 발현 증가가 침윤된 호산구에서 유리되었다고 생각되어진다. 이러한 추정은 비용조직내에서 IL - 4를 발현하는 세포의 90%가 호산구였다는 Nonaka등[17]의 연구결과를 통해서도 뒷받침된다. 또한 상악동 후비용에서의 IL - 4 발현이 알레르기성 비용과 비슷하나 호산구의 침윤이 많지 않은 본 실험의 결과는 상악동 후비용 발생에 알레르기성 비용과는 다른 형태의 체액성 면역반응이 관여함을 간접적으로 보여주는 것이다. IL - 4는 IgE의 생성 증가를 위하여 또다른 Th - 2 cytokine인 IL - 5 또는 IL - 6와 상승적으로 작용한다고 알려져 있는데, 저자의 실험에서 알레르기성 비용에서의 IL - 6 발현 증가가 없었던 결과로 미루어 보아, 본 실험에서 측정하지는 않았으나 IL - 5의 발현이 알레르기성 비용에서 증가되어 있다는 Hamilos등[18]의 연구결과에서와 같이 IL - 5의 발현이 증가되어 있을 것으로 짐작된다. 이러한 결과는 체액성 면역에 관여하는 Th - 2 반응이 상악동 후비용과 알레르기성 비용의 발생에 관여함을 보여주고 있다.

IFN - γ는 대식세포 활성화등을 통하여 세포성 면역을 향상시키는 대표적인 Th - 1 cytokine 이다. 본 실험결과 중비도에서 발생한 비용의 경우가 대조군이나 상악동 후비용에 비해 IFN - γ의 유의한 증가를 보였다. Th - 1 cytokine인 IFN - γ의 발현을 Th - 2 cytokine인 IL - 4와 비교해 보았을 때, 상악동 후비용에서는 IL - 4를 통한 체액성 면역반응이, 중비도 비용의 경우에는 비알레르기성의 경우 IFN - γ를 통한 세포성 면역반응이 우세하게 나타났으며, 알레르기성 비용인 경우에는 두가지 모두가 공존함을 보여주고 있다. 특히 비알레르기성 비용에서 IL - 4/IFN - γ의 비율이 알레르기성에 비해 훨씬 작게 나타난 결과는, IFN - γ의 발현이 비알레르기성 비용에서 증가되어 있다는 Hamilos등[18]의 연구결과와도 일치하는 것이다. 또다른 Th - 2 cytokine인 IL - 6의 경우 상악동 후비용군에서만 현저한 증가를 보여주어, 상악동 후비용의 발생에는 세포성 면역보다는 IL - 4와 IL - 6를 통한 체액성 면역반응이 주로 관여함을 알 수 있었으며, 중비도 비용에서 IL - 6 발현이 전혀 없었던 본실험 결과와 중비도 비용조직내 IL - 6 발현이 별로 없었다는 Davidsson등[19]의 보고를 종합해 볼 때 중비도 비용의 경우 IL - 6를 통한 체액성 면역반응이 미미한 반면, 상악동 후비용의 경우 IL - 6를 통한 면역반응이 관여함이 특징적으로 나타나고 있어 향후 상악동 후비용에 관한 IL - 6 연구가 필요할 것으로 생각된다.

GM - CSF는 정상 대조군에 비해 모든 비용군에서 의미있는 증가를 보여주었다. 이러한 결과는 GM - CSF가 Th - 1 및 Th - 2 세포 모두에서 분비되는 cytokine이라는 점을 생각해 볼 때, 앞에서의 결과들과 일치하는 소견이며, 또한 비용조직에서 GM - CSF의 발현이 증가되어 있음을 밝힌 Hamilos등[18]과 Ohno등[20]의 보고와도 일치하는 것이다.

지금까지는 비용을 단지 그 발생 위치와 알레르기의 동반 유무에 따라 분류해 왔다. 저자는 비용이 그 종류에 따라 임상적 치료에 대한 반응이 다르다는 데 착안하여, 각 비용조직에서의 세포 침윤과 cytokine 발현양상을 조사함으로써 각 비용의 발생을 면역학적 기전으로

설명하고자 하였다. 그 결과 상악동 후비용의 경우 체액성 면역반응이, 비알레르기성 비용에서는 세포성 면역반응이, 그리고 알레르기성 비용의 경우에는 체액성과 세포성 면역반응이 주로 관여할 것임을 시사하였다. 이와같은 면역학적 발생기전의 차이를 보다 명확하게 설명하기 위하여는 향후 더 많은 cytokine의 발현조사가 이루어져야 하고, northern blot analysis나 ribonuclease protection assay등 좀더 정확한 정량방법이 동원되어야 할 것이며, 나아가 증가된 mRNA가 실제 단백질로 발현되는지를 면역조직화학적 방법등으로 확인하여야 할 것이다.

중심 단어 : 비용 · 사이토카인 · 역전사 중합효소 연쇄반응.

본 논문은 가톨릭 대학교 의과대학 성빈센트병원 연구비의 보조로 이루어졌음.

REFERENCES

1) Larsen PL, Tos M. *Origin of nasal polyps. Laryngoscope 1991;101:305-12.*
2) Drake-Lee AB, Lowe D, Swanston A, Grace A. *Clinical profile and recurrence of nasal polyps. J Laryngol Otol 1984;98:783-93.*
3) Cauna N, Hinderer KH, Manzetti GW, Swanson EW. *Fine structure of nasal polyps. Ann Otol 1972;81:41-58.*
4) Bernstein JM, Cropp GA, Nathanson I, Yankaskas JR. *Bioelectric properties of cultured nasal polyp and turbinate epithelial cells. Am J Rhinol 1990;4:45-9.*
5) Denburg JA, Dolovich J, Ohtoshi T, Cox G, Gauldie J, Jordana M. *The microenvironmental differentiation hypothesis of airway inflammation. Am J Rhinol 1990;4:29-32.*
6) Settipane GA. *Nasal polyps. In: Settipane GA. Rhinitis. 2nd ed. Rhode Island: Oceanside Publication;1991. p. 173-83.*
7) Settipane GA. *Aspirin intolerance and other systemic disease presenting as nasal polyps. Am J Rhinol Suppl 1994; 8:298-9.*
8) Dawes P, Bates G, Watson D, Lewis D, Lowe D, Drake-Lee A. *The role of bacterial infection of the maxillary sinus in nasal polyps. Clinical Otolaryngol 1989;14:447-50.*
9) Ogawa H. *Atopic aspect of eosinophilic nasal polyposis and a possible mechanism of eosinophil accumulation. Acta Otolaryngol (Stockh) Suppl 1986;430:12-7.*
10) Tos M, Morgensen C. *Pathogenesis of nasal polyps. Rhinol 1977;15:87-95.*
11) Gray L. *Deviated nasal septum: III. Its influence on the physiology and disease of the nose and ear. J Laryngol 1967;81:953-86.*
12) Chandra RK, Abol BM. *Immunopathology of nasal polyp. J Laryngol Otol 1974;88:1019-24.*
13) Lee BJ, Yoon SW. *Local expression of vascular endothelial adhesion molecules and infiltration of eosinophils in the nasal polyps. Korean J Otolaryngol 1995;38:1032-41.*
14) Mossmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Gredlin MA, Coffman RI. *Two types of murine helper T cell clones. J Immunol 1986;136:2348-57.*
15) Robinson DS, Hamid Q, Ying S, Tsicopoulos A, Barkans J, Bentley AM, *et al. Predominant Th2-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma. N Engl J Med 1992;326:298-304.*
16) Wierenaga EA, Snoek M, de Groot C, Chretien I, Bos JD, Jansen HM, *et al. Evidence for compartmentalization of functional subsets of $CD4^+$ T lymphocytes in atopic patients. J Immunol 1990;144:4651-6.*
17) Nonaka M, Nonaka R, Woolley K, Adelroth E, Miura K, O'Byrne P, *et al. Localization of interleukin-4 in eosinophils in nasal polyps and asthmatic bronchial mucosa. J Allergy Clin Immunol 1995;95:220.*
18) Hamilos DL, Leung DY, Wood R, Cunningham L, Bean DK, Yasruel Z, *et al. Evidence for distinct cytokine expression in allergic versus nonallergic chronic sinusitis. J Allergy Clin Immunol 1995;96:537-44.*
19) Ghaffar O, Lavigne F, Kamil A, Renzi P, Hamid Q. *Interleukin-6 expression in chronic sinusitis: Colocalization of gene transcripts to eosinophils, macrophages, T lymphocytes, and mast cells. Otolaryngol Head Neck Surg 1998; 118:504-11.*
20) Ohno I, Lea R, Finotto S, Marshall J, Denburg J, Dolovich J, *et al. GM-CSF gene expression by eosinophils in nasal polyps. Am J Respir Cell Mol Biol 1991;5:505-10.*